

灵芝实体提取物对实验性炎症的镇痛抗炎作用的观察^①

杨文宝¹, 黄秋菊¹, 梁彩梅¹, 刘海燕¹, 赵善民²②

(1. 右江民族医学院临床医学2012级本科, 广西 百色 E-mail: 635957824@qq.com;

2. 右江民族医学院生理学教研室, 广西 百色 533000)

摘要: **目的** 观察灵芝实体水、醇提取物对实验性炎症的镇痛抗炎作用, 并初步探讨其作用机制。 **方法** 制备灵芝实体的水提取物和75%乙醇提取物进行镇痛抗炎实验观察, 采用醋酸扭体法和热板法进行镇痛实验, 采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀进行抗炎实验。 **结果** 灵芝实体水、醇提取物具有明显的抑制小鼠扭体的作用 ($P < 0.01$); 灵芝提取物在给药后1 h、2 h均能明显提高热板法小鼠的痛阈值 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 但水提取物较醇提取物作用明显。灵芝水、醇提取物均能抑制二甲苯所致小鼠耳廓肿胀 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 但醇提取物较水提取物作用明显。 **结论** 灵芝实体水、醇提取物对炎症实验动物模型具有显著的镇痛抗炎作用。

关键词: 灵芝实体; 提取液; 镇痛; 抗炎; 小鼠

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2015)06-0769-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2015.06.002

Analgesic and anti-inflammatory effects of Ganoderma lucidum entities extract on experimental inflammation

Yang Wenbao¹, Huang Qiuju¹, Liang Caimei¹, Liu Haiyan¹, Zhao Shanmin²

(1. Undergraduate of Clinical Medicine, Grade 2012, Department of Clinical Medicine Science, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China

E-mail: 635957824@qq.com; 2. Department of Physiology, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To observe the analgesic and anti-inflammatory effects of water/ethanol extract of Ganoderma lucidum entities on experimental inflammation, and to preliminarily study its mechanism. **Methods** Water extract and 75% ethanol extract of Ganoderma lucidum entities were prepared for analgesic and anti-inflammatory experiments. Analgesic experiments were performed by using acetic acid twisting method and hot plate method, and an anti-inflammatory experiment was performed by using mouse auricle swelling induced by xylene. **Results** The water/ethanol extract of Ganoderma lucidum entities could obviously inhibit mice body twisting induced by acetic acid ($P < 0.01$); Ganoderma extract at 1 h, 2 h after treatment could obviously increase the pain threshold of mice in the hot plate test, ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); but water extract of Ganoderma lucidum was more effective than ethanol extract of Ganoderma lucidum. Both water and ethanol extract of Ganoderma lucidum could inhibit mouse auricle swelling caused by dimethylbenzene ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), but ethanol extract was more effective than water extract. **Conclusion** Water/ethanol extract of Ganoderma lucidum entities has significant analgesic and anti-inflammatory effects on experimental inflammatory animal models.

Key words: Ganoderma lucidum entities; extracting solution; analgesia; anti-inflammation; mice

灵芝是担子菌门担子菌纲多孔菌科属药用真菌, 作为传统中药已有2000多年的历史, 祖国医学早就认为其有扶助正气、滋补强壮的功效, 对其药性和功效已

做了详尽的记述^[1]。灵芝在我国南岭以南的两广、福建和台湾南部以及海南、香港地区均有分布, 盛产于广东、广西等地, 资源十分丰富。文献记载灵芝具有抗肿

① 基金项目: 2014年右江民族医学院校级大学生创新创业训练计划立项项目(XJ CXB201405)

② 通讯作者: E-mail: shengliymcn@126.com

瘤、免疫调节、保护心脏、消除自由基、抗衰老和促进造血功能等作用^[2-4]。灵芝的镇痛抗炎作用虽已有人研究,但用水提取物和醇提取物同时观察镇痛抗炎这方面较少,为此,我们用灵芝实体水提取物和醇提取物同时观察实验性炎症的抗炎镇痛这方面的实验,为灵芝的镇痛抗炎提供资料,更为灵芝的利用提供新的途径。

1 实验材料与方法

1.1 药物 野灵芝实体,2014 年 9 月 27 日购自百色市右江区城乡路 4 号百色市民健大药房。

1.2 药物制备 灵芝实体提取物:取灵芝实体剪碎 100 g 加入 10 倍的蒸馏水,放于常温下 4 h,然后用慢火煮沸 1 h,冷却后用干净纱布过滤,保留滤液;滤渣再加 500 ml 蒸馏水,再用慢火煮沸 1 h,冷却后过滤,保留滤液,合并两次滤液,最后浓缩至 100 ml(1 ml 含生药 1 g),作为灵芝提取物,置于冰箱 4℃ 备用。灵芝实体 100 g,用醇提法,乙醇浓度 75%、8 倍量、回流 2 次、每次 1 h,制备成 1 g/ml 药材的醇提取液,置于冰箱 4℃ 备用。阿司匹林肠溶片:江苏平光制药有限公司,生产批号 140111,加生理盐水配制成 0.5 mg/ml 的阿司匹林肠溶液,备用。冰醋酸:浓度 ≥ 99.5%,广东省汕头市西陇化工厂有限公司,批号 0808042;配制成 0.6% 的醋酸溶液,备用。二甲苯:浓度 ≥ 99.0%,广东省广州新建精细化工厂,批号 20060322。

1.3 动物 小白鼠,昆明种,6~8 周龄,雌雄兼有,体重(22±2)g,均由本校动物实验中心提供(许可证号:SYXK2011-0010)。

1.4 仪器 智能热板仪(YLS-6A),山东省医学科学院设备站生产;电子分析天平(ME104/02),梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司生产,产品标准号 GB/T23111。

1.5 镇痛实验

1.5.1 醋酸扭体法 选择体重(22±2)g 健康小鼠 40 只,雌雄各半,随机分成 4 组,分别为阴性对照组(生理盐水组)、水提取物组(1 g/ml)、醇提取物组(1 g/ml)以及阳性对照组(阿司匹林 0.5 mg/ml),共 4 组。按剂量 0.2 ml/20 g 给小鼠灌胃,每天 1 次,连续 5 d。实验前动物禁食 12 h,最后一次给药 1 h 后腹腔注射 0.6% 醋酸溶液(现配现用)0.2 ml,仔细观察注射醋酸溶液后各组表现出的扭体反应(腹部收缩内凹、伸展后肢、臀部抬高、蠕行)的时间及小鼠 15 min 内的扭体次数,便于对药物的镇痛作用进行评价。扭体反应抑制率的计算如下:

抑制百分率(%)=[(对照组平均扭体数-给药组平均扭体数)/对照组平均扭体数]×100%。

1.5.2 热板法 首先把智能热板仪调热到(55±0.5)℃。然后取数只雄性小鼠,依次放在热板仪上,按“开始”键记录时间,从把小鼠放入热板仪到出现舔足现象的时间(s)作为该鼠的痛阈值,凡是逃避或于 5~

30 s 内不出现舔足现象的小鼠舍弃不用。然后取筛选合格的雄性小鼠 40 只,分组同上。连续灌胃 5 d,最后一次给药分别在 1 h、2 h 后测定各鼠痛阈值。

1.6 抗炎实验 小鼠耳廓肿胀法:选择体重(22±2)克健康小鼠 40 g,雌雄各半,分组同上。连续灌胃 5 d,最后一次给药 1 h 后,涂二甲苯 0.02 ml 于小鼠右耳两面致肿,以左耳不涂为正常作为对照。4 h 后脱颈椎处死,沿耳廓基线剪下双耳,用 9 mm 打孔器在左、右耳廓相同部位打一圆片,分别置于电子天平上称重,记录数据。计算肿胀度及抑制率,比较各组差异。肿胀度=[(右耳重量-左耳重量)/左耳重量]×100%;肿胀抑制率=[(对照组平均肿胀度-实验组平均肿胀度)/对照组平均肿胀度]×100%。

1.7 统计学方法 采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,实验所得数据以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较选用单因素方差分析,其中多重比较选用 LSD 法,检验水准为 0.05, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 灵芝实体提取物对醋酸致小鼠扭体的影响 对水提取物组、醇提取物组、阿司匹林组、生理盐水组 4 组扭体次数比较,差异有统计学意义($F = 26.5, P < 0.001$),采用 LSD 法对水提取物组、醇提取物组、阿司匹林组分别与生理盐水组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$);水提取物组、醇提取物组与阳性对照阿司匹林组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。实验表明,两种灵芝实体提取物对醋酸引起的疼痛均有显著作用,与阿司匹林的镇痛作用相当,见表 1。

表 1 灵芝提取物对小鼠扭体反应的影响 ($n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	扭体次数 ($\bar{x} \pm s$, 次)	抑制率 (%)
生理盐水组	—	84.50±25.72	—
阿司匹林组	5	20.90±15.23 ^a	75.27
水提取物组	10	18.60±15.71 ^a	77.99
醇提取物组	10	30.50±17.57 ^a	63.91

注:与生理盐水组比较, a: $P < 0.01$

2.2 灵芝实体提取物对小鼠热板法的镇痛作用实验结果 对水提取物组、醇提取物组、阿司匹林组和生理盐水组 4 组痛阈值比较,在 2 h 内差异有统计学意义($F = 4.74, P < 0.05$)。水提取物组、阿司匹林组在 1 h、2 h 内均能明显提高小鼠的痛阈值,与生理盐水组比较只在 2 h 内差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),水提取物组与阿司匹林组(按小鼠体重 5 g/kg 给药)比较差异无统计学意义($P > 0.05$);而灵芝醇提取物组与生理盐水组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),与阿司匹林组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。实验表明,灵芝水提取物对提高小鼠的痛阈值有显著作用,与阿司匹林的镇痛作用相当;而灵芝醇提

取物对小鼠痛阈值则无明显作用,镇痛作用不如水提取物和阿司匹林,见表2。

表2 灵芝提取物对小鼠热板法的镇痛作用 ($n=10$)

组别	剂量 (g/kg)	不同时间段小鼠痛阈值($\bar{x}\pm s, s$)	
		1 h	2 h
生理盐水组	—	14.19±6.89	21.95±8.58
阿司匹林组	5	19.77±7.08 ^a	19.76±9.42 ^a
水提取物组	10	22.97±13.27 ^a	36.95±16.35 ^b
醇提取物组	10	16.92±5.98	24.95±8.16

注:与生理盐水组比较,a: $P<0.05$;b: $P<0.01$

2.3 灵芝实体提取物对二甲苯致小鼠耳廓肿胀影响的实验结果 对水提取物组、醇提取物组、阿司匹林组和生理盐水组4组小鼠耳肿胀度比较,差异有统计学意义($F=3.19, P<0.05$)。灵芝水提取物组、醇提取物组、阿司匹林组(按小鼠体重5 g/kg给药)与生理盐水组比较差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);水提取物组与阿司匹林组比较差异无统计学意义($P>0.05$),而醇提取物组与阿司匹林组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。实验表明,灵芝提取物对二甲苯所致炎性水肿有显著性抑制作用,且其醇提取物优于阿司匹林,见表3。

表3 灵芝提取物对二甲苯致小鼠耳廓肿胀的影响 ($n=10$)

组别	剂量 (g/kg)	鼠耳肿胀度 ($\bar{x}\pm s, \%$)	肿胀抑制率 (%)
生理盐水组	—	80.68±51.67	—
阿司匹林组	5	42.74±47.45 ^a	47.03
水提取物组	10	41.35±24.43 ^a	48.75
醇提取物组	10	30.93±20.7 ^b	61.67

注:与生理盐水组比较,a: $P<0.05$;b: $P<0.01$

3 讨论

疼痛是临床上最常见的症状之一,是由于痛觉感受器受到刺激而产生兴奋信号,经传入神经到达大脑皮层所引起的一种不舒适的感觉。本研究中镇痛实验表明灵芝提取物对理化因素致痛有一定的镇痛效果。灵芝实体水和醇提取物均能明显减少醋酸所致小鼠扭体反应次数,而水提取物更能明显延长热刺激小鼠痛阈值。表明灵芝实体提取物对不同理化因素刺激引起的疼痛均有良好的镇痛效果,在临床上可用于消减炎症反应引起的疼痛。而且灵芝水提取物的镇痛效果优于醇提取物。

炎症是具有血管系统的活体组织对损伤因子所发生的防御反应,红、肿、热、痛和功能障碍是其局部临床表现的特征。在炎症初期,血管受到理化因素的刺激,血管内皮组织间隙扩大,血管壁通透性增高,白细胞和蛋白质等成分渗出到组织间隙,造成组织肿胀^[5]。本

实验表明灵芝实体提取物能显著抑制二甲苯致小鼠耳廓肿胀的炎症反应,体现了其较好的抗炎作用。醇提取物与水提取物、阿司匹林相比,抗炎作用更优。

灵芝属真菌,含有以多糖为主的多种化学成分,其中如水溶性多糖GL-1具有抗肿瘤活性,灵芝多糖A、B、C具有降血糖活性,以及多糖BN3C3具有促进核酸蛋白质合成代谢作用、改善造血功能;在灵芝的子实体、菌丝体、孢子粉及发酵液中还分离得到100余种三萜类成分;除此之外,王培珍^[6]发现灵芝还含有麦角甾醇、有机酸、生物碱、香豆精和氨基酸等成分;其多糖具有激活免疫细胞提高抗炎作用的免疫功能^[7]。有研究表明灵芝具有镇痛抗炎作用^[8-9]。但他们都是以灵芝水提取物观察对模型小鼠的作用,而对灵芝醇提取物镇痛抗炎作用的实验报道较少,本实验研究则分别制备灵芝水提取物和醇提取物,并分别观察这两种提取物对模型小鼠的作用,就两种提取物对小鼠镇痛抗炎作用的效果进行比较观察。发现灵芝提取物剂量在10 g/kg时,水和醇提取物均能明显减少醋酸所致小鼠扭体反应次数,但水提取物更能明显提高小鼠温度痛阈值。虽然两种提取物均能明显抑制二甲苯所致小鼠耳廓肿胀,但醇提取物组与水提取物组、阿司匹林组相比,抗炎作用更优。灵芝的镇痛抗炎作用,初步分析其提取物可能含有挥发油作用于神经中枢及外周系统,其成分中的蛋白多糖等可使致炎模型的巨噬细胞、多形多核细胞CD4⁺T细胞数量增加而增强免疫作用。同时提示虽灵芝实体水、醇提取物对炎症实验动物模型具有显著的镇痛抗炎作用,但各有侧重。本实验的开展为灵芝的镇痛抗炎研究提供较为详实的资料。

参考文献:

- [1] 吕超田,姚向阳,孙程.灵芝主要活性物质及其药理作用研究进展[J].安徽农学通报,2011,17(1):50-51.
- [2] 孟玉娥.识得灵芝需慧眼(之三)——灵芝的药理作用[J].生态文化,2011(3):38-40.
- [3] 刘佳,王勇.灵芝多糖的研究进展[J].现代药物与临床,2012,27(6):629-634.
- [4] 韦永福,陈晓颖,吴龙娟,等.灵芝多糖对肝癌细胞株HepG2的PTEN活性的影响[J].右江民族医学院学报,2013,35(4):455-457.
- [5] 李兰芳,李存满,张勤增,等.苜蓿提取物抗炎镇痛作用的实验研究[J].河北医药,2010,32(7):789-791.
- [6] 王培珍.灵芝的药理作用与临床应用进展[J].上海医药,2012,33(9):28-29.
- [7] 宋保兰.灵芝的药理作用研究进展[J].中国民族民间医药,2014,23(10):9-10.
- [8] 龚爱基,姜翠霞,李腾飞,等.雪灵芝提取物总黄酮测定及对小鼠的镇痛作用[J].时珍国医国药,2010,21(5):1165-1166.
- [9] 陈伟,陈美华,刘晓鹏,等.灵芝提取物镇痛抗炎作用研究[J].泰山医学院学报,2006,27(2):102-103.

收稿日期:2015-09-29;修回日期:2015-11-22